

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 00/06853

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 B01D15/08

2002

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 127 926 A (HEWLETT-PACKARD COMP.) 12 December 1984 (1984-12-12) page 6, line 15 - line 32; claims 1,2	1-5,10, 11,13
A	US 5 422 007 A (R.NICOUD ET AL.) 6 June 1995 (1995-06-06) claim 1	1

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 December 2000

Date of mailing of the international search report

05/01/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bertram, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/06853

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 127926	A 12-12-1984	DE 3461421 D		15-01-1987
		JP 60006861 A		14-01-1985
US 5422007	A 06-06-1995	FR 2690630 A		05-11-1993
		FR 2694208 A		04-02-1994
		FR 2704158 A		28-10-1994
		CA 2111084 A		11-11-1993
		DE 69323382 D		18-03-1999
		DE 69323382 T		10-06-1999
		DK 592646 T		20-09-1999
		EP 0592646 A		20-04-1994
		ES 2130262 T		01-07-1999
		WO 9322022 A		11-11-1993
		JP 7500771 T		26-01-1995
		NO 934830 A		25-02-1994

DEUTSCHER
19.02.01/ken
PCT

**NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES**

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

Date of mailing (day/month/year) 01 February 2001 (01.02.01)
--

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

ACKERMANN, Joachim
Cohausenstrasse 1
D-65719 Hofheim Dr. Ackermann - Patentanwalt
ALLEMAGNE

Eingang: 19. FEB. 2001

 WV Ablage
Verteilen

2002

Applicant's or agent's file reference

199kd02.wo

IMPORTANT NOTICE

International application No. PCT/EP00/06853	International filing date (day/month/year) 18 July 2000 (18.07.00)	Priority date (day/month/year) 21 July 1999 (21.07.99)
--	--	--

Applicant

KD PHARMA BEXBACH GMBH et al

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
AU, KP, KR, US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AE, AL, AM, AP, AT, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EA, EE, EP, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,

NO, NZ, OA, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW
The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 01 February 2001 (01.02.01) under No. WO 01/07137

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer

J. Zahra

Telephone No. (41-22) 338.83.38



Continuation of Form PCT/IB/308

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF
THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

Date of mailing (day/month/year) 01 February 2001 (01.02.01)	IMPORTANT NOTICE
Applicant's or agent's file reference 199kd02.wo	International application No. PCT/EP00/06853

The applicant is hereby notified that, at the time of establishment of this Notice, the time limit under Rule 46.1 for making amendments under Article 19 has not yet expired and the International Bureau had received neither such amendments nor a declaration that the applicant does not wish to make amendments.

"Express Mail" mailing label
number ET284671961

Date of Deposit
January 18, 2002-

I hereby certify that this paper or fee is
being deposited with the United States Postal
Service "Express Mail" Post Office to
Attn: Assistant Commissioner for Patents
37 CFR 1.10 on the
date indicated and is addressed to: Box
Assistant Commissioner for Patents,
Washington, D.C. 20231

- Barbara J. Miller -

(Typed or printed name of person mailing
paper or fee)

Barbara J. Miller
(Signature of person mailing paper or fee)

PCT,

PROPOSAL 18 JAN 2002

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. Februar 2001 (01.02.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/07137 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **B01D 15/08**

(21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP00/06853**

(22) Internationales Anmeldedatum:
18. Juli 2000 (18.07.2000)

(25) Einreichungssprache: **Deutsch**

(26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**

(30) Angaben zur Priorität:
199 34 168.0 21. Juli 1999 (21.07.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **KD PHARMA BEXBACH GMBH [DE/DE]**; Am Kraftwerk 4-6, D-66450 Bexbach (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **KRUMBHOLZ, Rudolf [DE/FR]**; 4, rue des Lys, F-57510 Holving (FR). **SCHIRRA, Norbert [DE/DE]**; Schumannstrasse 46, D-66333 Völklingen (DE). **TREITZ, Manfred [DE/DE]**; Ludweilerstrasse 54, D-66352 Grossrosseln (DE).

(74) Anwalt: **ACKERMANN, Joachim**; Cohausenstrasse 1, D-65719 Hofheim (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- Mit internationalem Recherchenbericht.
- Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist: Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

A1

(54) Title: COLUMN CHROMATOGRAPHY SEPARATION METHOD

WO 01/07137

(54) Bezeichnung: SÄULENCHROMATOGRAPHISCHES TRENNVERFAHREN

(57) Abstract: Disclosed is a column chromatography separation method within the framework of liquid chromatography wherein eluents are used as a mobile phase consisting of lower molecules, preferably carbon dioxide, for the isolation and/or purification or preparation of mixtures of (natural) substances.

(57) Zusammenfassung: Beschrieben wird ein säulenchromatographisches Trennverfahren im Rahmen einer Flüssigkeitschromatographie mittels Eluenten als mobile Phase bestehend aus niederen Molekülen, vorzugsweise Kohlendioxid, zur Isolierung und/oder Reinigung und/oder präparativen Gewinnung von (Natur)Stoffgemischen.

Beschreibung

5

Säulenchromatographisches Trennverfahren

Die vorliegende Erfindung betrifft ein säulenchromatographisches Trennverfahren unter Verwendung eines flüssigen und niedermolekularen Fluids als Eluent zur 10 Isolierung und/oder Reinigung und/oder präparativen Gewinnung von (Natur)Stoffen aus Stoffgemischen, vorzugsweise Naturstoffgemischen.

Säulenchromatographische Trennverfahren spielen vermehrt in der Rohstoff-Aufbereitung, in der Produktreinigung, in der chemische Synthese sowohl im 15 Laboratoriumsmaßstab wie auch bei großtechnischen Produktionen eine bedeutende Rolle. Ebenfalls in der chemischen Analytik sind sie für die Isolierung, Identifikation und quantitativer / qualitativer Bestimmung einzelner Komponenten in Substanzgemischen unentbehrlich. Weitere wichtige Anwendungsgebiete für derartige Trennungen sind das Recycling, wobei aus Altmaterialien, wie Abwasser 20 und Abgasen Gifte und Schadstoffe, aber auch Wertstoffe abgeschieden werden.

Aus Kostengründen haben es bisher jedoch nur wenige säulenchromatographische Trennverfahren bis zur kommerziellen Nutzung gebracht. Insbesondere im Rahmen der präparativen Rohstoffgewinnung, insbesondere aus Naturstoffgemischen - 25 sowie deren Analytik – kommen säulenchromatographische Trennverfahren, wie HPLC ("High Performance Liquid Chromatography") oder Hochleistungs- bzw. Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie sowie SFC ("Supercritical Fluid Chromatographie") zum Einsatz.

30 Die HPLC macht sich die Erkenntnis zunutze, daß die Trennleistung einer Säule mit abnehmender Korngröße der stationären Phase zunimmt. Bei der HPLC wird mit erheblich feinerem chromatographischen Trennmaterial (3–10 µm) als bei der

Gelchromatographie (35–75 µm) oder der "klassischen" Säulenchromatographie (120–200 µm) gearbeitet. Die Feinteiligkeit der Trennmaterialien erfordert allerdings die Anwendung hoher Drücke (bis zu 40 MPa), was mit erheblichem technischen Aufwand verbunden ist. Die Säulen sind üblicherweise zwischen 5 - 100 cm (zumeist jedoch bis 25 cm) lang mit einem Innendurchmesser von 1–25 µm. Mit Kieselgel oder ähnlich porösem Material (von 10 µm oder weniger) gefüllt, kann eine 25 cm lange Säule 5000 Böden (theoretische Trennstufen) aufweisen – selbst Bodenzahlen von 65000/m können je nach stationärer Phase erzielt werden. Typische HPLC-Trennungen werden bei Raumtemperatur, vorzugsweise bei 20 bis 10 40°C, durchgeführt (Fa. Merck, Chrombook, 1996, Darmstadt, Fa. Phenomenex, Chromatographiekatalog, 99/00, Torrance, CA, USA). Die notwendigen Pumpen können in der analytischen HPLC bis zu einem Druck von 400 bar betrieben werden. In der präparativen HPLC werden Pumpen betrieben bis zu einem Druck von 70 (Pumpenleistung: 300 l/h) bis 100 bar (Pumpenleistung: 60 l/h Eluent (Flüssigkeit)) (vgl. z.B. Fa. Merck, Chrombook, S. 233, 1996, Darmstadt). Der limitierende Faktor bei der HPLC ist, insbesondere bei hohen Flüssen, der Pumpendruck. Die verwendeten Säulenlängen sind daher zumeist kurz; es gilt: je kleiner der Teilchendurchmesser des verwendeten chromatographischen Materials, desto kürzer müssen die Säulen werden. Prinzipiell kann eine Kompensation durch höhere maximale Arbeitsdrücke erfolgen, dies erhöht jedoch die Betriebskosten enorm und kann das HPLC - Verfahren im Rahmen einer präparativen Anwendung 15 in die Unwirtschaftlichkeit führen.

Die SFC hat sich als säulenchromatographisches Trennverfahren mit Gasen (CO₂, N₂O, SF₆ etc.) im überkritischen Zustand als mobile Phase durchgesetzt. Bei der SFC werden Flüssigkeiten und Gase unter Druck erhitzt, wobei diese oberhalb der jeweiligen kritischen Temperatur und des kritischen Drucks in den überkritischen Zustand überführt werden. In diesem Zustand zeichnen sich überkritische Flüssigkeiten gegenüber echten Flüssigkeiten nicht nur durch ihre geringere Dichte, 20 viel niedrigere Viskosität und viel höhere Diffusionskoeffizienten aus, sondern vor allem durch ihr hervorragendes Lösungsvermögen. Deshalb finden überkritische Flüssigkeiten aus CO₂, Ethylen, Propan, Ammoniak, Distickstoffdioxid, Wasser,

Toluol, Stickstoffheterocyclen u. a. Anwendung in der Extraktion, der sogenannten Supercritical Fluid Extraction (SFE od. SCFE; auch "Destraktion" genannt) – von Naturstoffen. Bekannt sind z. B. die Extraktion von Coffein aus Kaffee durch überkritisches CO₂, von Hopfenbitterstoffen, Riechstoffen, von Kohlenwasserstoffen 5 aus Erdöl oder Kohle, zur Reaktivierung von Heterogenkatalysatoren (Vgl. Wenclawiak (Hrsg.), Analysis with Supercritical Fluids: Extraction and Chromatography, Berlin: Springer 1992).

In der Regel wird in der SFC bei Temperaturen über 35°C und einem Druck auf der 10 Säulenauslaßseite von über 120 bar gearbeitet.

Beschrieben sind zahlreiche Trennungen bei Temperaturen unterhalb der kritischen Temperatur der verwendeten mobilen Phase; vgl. K. Anton, C. Berger (Ed.); Packed Columns, Marcel Dekker Inc., New York, Basel, Hongkong, 1998.

15 Die Trennung von Stoffgemischen, insbesondere von Naturstoffgemischen, mittels SFC wird in einer Reihe von Publikationen beschrieben, wie in JP-A-10/316,991; Chirality (1992); 4(4), 252-62; J. chromatogr. (1989), 464(1), 125-37; Nihon Yukagakkaishi (1997), 46(11), 1335-1345; Semin. Food Anal. (1996), 1(2), 101-116; 20 J. High Resolut. Chromatogr. (1996), 19(10), 569-570; Jasco Rep. (1991), 33(1), 6-11; Anal. Chem. (1990), 62(12), 394R-402R; und J. Chromatogr. Sci. (1990), 28(1), 9-14.

25 Vérillon und Coleman beschreiben auf Seite 64 (Anton supra) den Temperatur- und Druckbereich für das Arbeiten mit Fluiden- wie CO₂ - zwischen 3 bis 200°C und 90 - 400 bar. Die Trennungen erfolgen im überkritischen und subkritischen Bereich, jedoch nicht im flüssigen Bereich, d.h in einem Druckbereich unter dem kritischen Druck und Temperatur.

30 Jusforques beschreibt auf S. 409 in Kap. 14 (supra Anton) den erforderlichen Arbeitsbereich mit Temperaturen zwischen 0 und 150°C und Drücken zwischen 100 und 350 bar an (SFC-Apparatur: Super C12 im Rahmen der präparativen SFC).

Die Firma Prochrom gibt ebenfalls einen Arbeitsdruckbereich zwischen 100 und 350 bar an, bei Temperaturen zwischen 10 und 80°C (Fa. Prochrom, Prospekt zu semi-preparative Supercritical Fluid Chromatograph, Type: SuperC 20, 1998, 5 Chamigneulle, Frankreich).

EP 0 099 765 B1 offenbart, daß der Einlaßdruck des Gemisches in die Säule größer als der kritische Druck des Eluenten sein muß, und zwar zwischen 1,05 und 3. Drücke kleiner als der kritische Druck werden ausdrücklich als 10 Abscheidebedingungen beschrieben.

M. Perrut beschreibt in NO 163139 als Trennbedingungen nur den überkritischen und subkritischen Bereich und zwar Drücke von 70-250 bar und Temperaturen zwischen 25 und 80°C.

15 Im Stand der Technik sind keine chromatographischen Trennungen realisiert für mobile Phasen, mit einem Arbeitsbereich unter der kritischen Temperatur und Druck.

20 Schultz et. al (Schultz, W.G.; Randall, J.M.: Food Technol. 24, 1282 (1970)) beschreibt lediglich eine unspezifische Extraktion bei 22°C und 63 bar von Aromakonzentraten aus homogenisierten Früchten und Fruchtsäften. Eine chromatographische Trennung ist nicht erfolgt.

25 Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, ein säulenchromatographisches Verfahren im Rahmen einer Flüssigkeitschromatographie für die großtechnische Isolierung und / oder Reinigung und / oder präparative Gewinnung von (Natur)Stoffen aus (Natur)Stoffgemischen bereitzustellen, das aufgrund einer hohen Trennleistung zu reinen Produkten führt.

30 Somit betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur säulenchromatographischen Trennung von Stoffgemischen, wobei als Eluent ein Fluid oder eine

Mischung von Fluiden in flüssigem, nicht-subkritischem und nicht-kritischem Zustand zum Einsatz kommt, die bei 25°C und 1 bar gasförmig sind (nachstehend erfindungsgemäßes Verfahren).

5 Bei den erfindungsgemäß zum Einsatz kommenden Eluenten handelt es sich um niedermolekulare Verbindungen, die bei Normalbedingungen (25°C; 1 bar) gasförmig sind und die unter derartigen Temperatur- und Druckbedingungen zum Einsatz kommen, daß sie im flüssigen Zustand aber nicht im kritischen Zustand oder nicht im subkritischen Zustand (also nicht oberhalb der kritischen Temperatur und 10 unterhalb des kritischen Druckes) vorliegen.

Bevorzugte Eluenten für das erfindungsgemäße Verfahren sind leichtflüchtige Verbindungen mit geringer Wechselwirkung

15 Besonders bevorzugte Eluenten sind flüssiges Distickstoffoxid (N_2O); flüssige Fluor- oder Fluorkohlenwasserstoffe („Freone“), wie z.B. Chlortrifluormethan ($CClF_3$), Trifluormethan (CHF_3), Tetrafluormethan (CF_4), 1,1,1,2-Tetrafluorethan (CF_4H_2), flüssiges Kohlendioxid (CO_2), flüssiges Schwefelhexafluorid (SF_6), flüssiges Propen (C_3H_6), flüssiges Propan (C_3H_8), flüssiger Ammoniak (NH_3), flüssiges Schwefeldioxid 20 (SO_2), flüssiges Xenon (Xe), flüssiges Ethan (C_2H_6), welche bei Normalbedingungen gasförmig vorliegen.

25 Vorzugsweise werden solche Eluenten eingesetzt, die eine dynamische Viskosität von $10^{-4} - 10^{-6}$ Pa s, vorzugsweise $2 \cdot 10^{-4} - 2 \cdot 10^{-6}$ Pa s, eine Dichte von 0,5 – 1,2 g/ml, vorzugsweise 0,5-1,2 g/ml aufweisen.

Die Messung der dynamischen Viskosität erfolgt für die Zwecke dieser Anmeldung mit einem Kapillarviskosimeter bei 25°C.

30 Im erfindungsgemäßen Verfahren liegen solche niederen Moleküle als Eluent in der mobilen Phase flüssig vor.

Es werden vorzugsweise solche Eluenten eingesetzt, die dem Fachmann auf dem Gebiet der SFC bekannt sind.

Flüssiges Kohlendioxid ist jedoch ganz besonders bevorzugt und zwar in dem 5 flüssigen Temperaturbereich von -57°C bis $31,3^{\circ}\text{C}$, vorzugsweise von 0 bis 20°C .

Ferner ist flüssiges Kohlendioxid ganz besonders bevorzugt und zwar in dem Druckbereich von größer als 30 bar, vorzugsweise 30 bis 150 bar und ganz bevorzugt 30 bis 60 bar. Der flüssige Druckbereich des Kohlendioxids beträgt 10 5,2 bis 73,7 bar.

Bei Kohlendioxid beträgt der kritische Druck 73,7 bar und die kritische Temperatur beträgt $31,3^{\circ}\text{C}$. Der Tripelpunkt des Kohlendioxids liegt bei -57°C und 5,2 bar.

15 Selbstverständlich können die genannten Eluenten auch in einer Mischung vorliegen.

Der Arbeitsbereich des eingesetzten niedermolekularen Eluenten ist die flüssige Phase mit den zugehörigen p,T-Werten.

20 Diese p,T-Werte herrschen ebenfalls an der gewählten chromatographischen Trennsäule über welche der Eluent als mobile Phase geführt wird.

Säulenchromatographisches Trennverfahren im Sinne dieser Erfindung bedeutet, 25 daß eine Stofftrennung durch Verteilung, also durch den Lösevorgang in beiden, miteinander nicht mischbaren Phasen und durch Adsorption an einem Feststoff (Adsorbens) an einer stationären Phase in Gegenwart eines Eluenten als mobile Phase erfolgt. Insofern kann von einer Flüssig-fest-Chromatographie (engl. Liquid-Solid Chromatography, LSC) gesprochen werden. Zu den hier benutzten Begriffen 30 existieren Terminologie-Vorschläge der IUPAC, auf diese wird sich ausdrücklich bezogen.

In einer besonderen Ausführungsform wird die mobile Phase, enthaltend ein Eluent, mit Hilfe eines in der Chromatographie üblichen Modifiziermittels, wie einem unter Betriebsbedingungen flüssigem Alkohol, z.B. Ethanol oder Methanol, versetzt. Dieses Modifiziermittel kann ggf. mit weiteren Hilf- und Zusatzstoffen, wie Säuren 5 oder Basen (z.B. Essigsäure oder Diethylamin) versetzt werden.

Im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahren ergeben sich im Vergleich zu den bekannten Verfahren, wie HPLC- oder SFC-Verfahren zahlreiche Vorteile.

- 10 Besonders vorteilhaft gegenüber den bekannten HPLC- oder SFC-Verfahren ist, daß im erfindungsgemäßen Verfahren geringere Drücke angewendet werden müssen, beispielsweise lediglich Drücke bis ca. 70 bar. Dadurch können Kosten eingespart werden, da alle benötigten Bauteile, wie Pumpen, Druckaufnehmer oder Rohrleitungen, entsprechend ausgelegt bzw. kleiner dimensioniert werden können.
- 15 Die erforderlichen Sicherheitsanforderungen zur Arbeitssicherheit und Betriebssicherheit können reduziert werden.

Es wurde nunmehr in überraschender Weise gefunden, daß das erfindungsgemäße Verfahren in Gegenwart jedweder handelsüblicher fester stationärer Phasen 20 erfolgen kann, wie sie im Rahmen der HPLC und/oder der SFC verwendet werden.

Bevorzugt sind jedoch Säulen mit modifizierten oder unmodifizierten Phasen auf Basis von Kieselgel, Aluminiumoxid oder Titandioxid sowie geträgerte polymere stationäre Phasen, wie z.B. auf Kieselgel, Aluminiumoxid oder Titandioxid aufge- 25 brachte Diolphase, Aminopropylphase, RP8 und RP18 Phasen, wobei diese Phasen insbesondere auf Kieselgelträgern aufgebracht sind.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann für Säulenlängen in weiten Bereichen eingesetzt werden. Üblicherweise sind die Säulen mindestens 10 cm lang, 30 bevorzugt sind jedoch Längen von 0,25 - 2,0 m, besonders bevorzugt ist 1,1 - 1,7 m.

Diese höheren Säulenlängen gewährleisten eine hohe Trennleistung und können

erreicht werden, da das erfindungsgemäße Verfahren keinen großen Druckabfall in der Säule verursacht.

Der Druckabfall kann nach Formel 1 an Tabelle 1 abgeschätzt werden. Da die 5 Viskosität der zum Einsatz kommenden flüssigen Eluenten klein gewählt ist, ist auch der resultierende Druckabfall gering. Durch den geringen Druckabfall pro cm Säule kann die Säule bei gleichem Teilchendurchmesser der stationären Phase entsprechend lang gewählt werden oder es können im Vergleich zur HPLC kleinere Teilchendurchmesser bei konstanter Säulenlänge verwendet werden.

10

Das erfindungsgemäße Verfahren kann mit üblichen Anordnungen betrieben werden, wie sie auch in den bekannten SFC-Verfahren zum Einsatz kommen.

15

Zur weiteren Erläuterung der Erfindung wird nachfolgend der Betrieb einer üblichen SFC-Anordnung im industriellen Maßstab mit dem Eluenten CO₂ beschrieben.

Einzuspeisendes CO₂ wird aus einem flüssig CO₂-Vorratstank mittels eines Wärmetauschers abgekühlt. Das von der Pumpe geförderte CO₂ wird mittels des Wärmetauschers auf überkritische Bedingungen gebracht (T>31°C, p>74bar), 20 typischerweise 40-60°C. Jenes CO₂ strömt durch die Trennsäule und wird an einem Druckregelventil entspannt. Dieses Druckregelventil regelt den Säulenauslaßdruck, der am Ende der Trennsäule herrscht und über dem kritischen Druck gehalten (p>74bar) wird. Dadurch werden in der Trennsäule überkritische Trennbedingungen gewährleistet. Das CO₂ kühlt sich durch die adiabatische Expansion am Druck- 25 regelventil ab. Anschließend wird das CO₂ mit einem Wärmetauscher aufgeheizt und in den gasförmigen Zustand gebracht. In einem Abscheider wird das Produkt vom gasförmigen CO₂ getrennt. Das gasförmige CO₂ gelangt über den Wärmetauscher, der es wieder verflüssigt, in den Vorratstank. Es ergibt sich ein geschlossener CO₂ -Kreislauf. Das Produkt wird aus dem Vorratsgefäß mit Hilfe der 30 Pumpe diskontinuierlich auf die Trennsäule injiziert. Für diese übliche SFC-Anordnung sind energieintensiv total mindestens vier Wärmetauscher notwendig.

Im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahren ergeben sich zusätzlich zu der oben für das SFC-Verfahren beschriebenen Vorgehensweise zahlreiche Möglichkeiten einer funktionalen Anordnung von denen einige nachfolgend beschrieben werden.

5

Der besondere Vorteil des erfindungsgemäßen Verfahrens liegt darin, daß ein energieaufwendiges wechselndes Abkühlen und Erhitzen des CO₂ vermieden wird.

10 Einzuspeisendes CO₂ wird aus einem flüssig CO₂ -Vorratstank mittels eines Wärmetauschers abgekühlt. Das von der Pumpe geförderte CO₂ wird mittels des Wärmetauschers auf die Trenntemperatur eingestellt. Dieser kann jedoch sehr klein sein, da das CO₂ nur von typischerweise 0-5°C auf 5-20°C erwärmt wird.

15 Werden niedrige Trenntemperaturen, z.B. 5°C, gewählt, so kann dieser Wärmetauscher zudem außer Betrieb genommen werden. Das flüssige CO₂ strömt durch die Trennsäule. Mit Hilfe eines Umschaltventiles werden die einzelnen Fraktionen auf sogenannte Fraktionierungssäulen umgeleitet, beispielsweise auf drei Fraktionierungssäulen. Es sind beliebig viele Fraktionierungssäulen möglich, im einfachsten Fall jedoch eine Fraktionierungssäule und eine zusätzliche Rohrleitung, 20 welches das Umschaltventil mit einem weiteren Umschaltventil verbindet.

25 Der Säulenauslaßdruck wird mit einem Druckregelventil geregelt. An diesem Ventil erfolgt die Entspannung des CO₂. Nach Injektion der Probe (Annahme: die Probe enthält 3 Komponenten A, B und C) wird die Probe auf der Trennsäule getrennt.

Während der Elution von Komponente A wird das Umschaltventil so geschaltet, daß CO₂ und Komponente A in Richtung des weiteren Umschaltventils umgeleitet wird. Das flüssige CO₂ wird entspannt. Das CO₂ verliert seine Lösungskraft. Komponente A wird dadurch auf der Fraktionierungssäule festgehalten. Das CO₂ wird durch 30 einen Wärmetauscher weiter abgekühlt (falls notwendig) und gelangt wieder in den Vorratstank.

Nach Elution von Komponente A von der Säule wird das Umschaltventil auf eine weitere Fraktionierungssäule umgeschaltet. Die eluierende Komponente B wird auf dieser Fraktionierungssäule festgehalten. Komponente C auf einer weiteren Fraktionierungssäule. Eluiert keine Probesubstanz kann wahlweise der CO₂-Strom 5 über eine der Fraktionierungssäulen geführt werden oder eine zusätzliche Rohrleitung mit einem Druckregelventil, welches das Umschaltventil mit dem weiteren Umschaltventil verbinden.

Das chromatographische Material der Trennsäule ist so gewählt, daß die Auflösung 10 der Probekomponenten maximal ist. Das Material der Fraktionierungssäulen wird so gewählt, daß Adsorption der jeweiligen Probekomponente unter den dort herrschenden Bedingungen während der Trennung maximal ist.

Diese Vorgehensweise kann für mehrere Injektionen wiederholt werden (bis die 15 Kapazität einer Fraktionierungssäule erreicht ist). Die Elution der jeweiligen Komponenten erfolgt mit einem geeigneten starken Lösemittel, z.B. Ethanol. Eine separate Pumpe fördert den Eluenten über das Umschaltventil bis zum Auslaß nach dem weiteren Umschaltventil. Die Wertfraktionen werden also in diesem Fall in Flüssigkeit gelöst aufgefangen.

20 Der Vorteil dieser beschriebenen Vorrichtung liegt darin, daß weder ein vierter Wärmetauscher noch ein Abscheider benötigt wird.

In weiteren Ausgestaltungen des erfindungsgemäßen Verfahrens kann das 25 Druckregelventil direkt hinter der Trennsäule angebracht sein. Das expandierte CO₂ mit der jeweiligen Probekomponente wird erst nach der Entspannung mittels des Umschaltventils auf die betreffende Fraktionierungssäule geleitet. Der Vorteil gegenüber der voranstehend beschriebenen Anordnung ist, daß nur ein Druckregelventil benötigt wird.

30 In weiteren Ausgestaltungen des erfindungsgemäßen Verfahrens können die Druckregelventile hinter den Fraktionierungssäulen angebracht sind. Zusätzlich

befinden sich dahinter zusätzliche Abscheider.

Bei dieser Anordnung wird der Druck hinter der Fraktionierungssäule reguliert. Das Material der Fraktionierungssäulen wird so gewählt, daß die Komponenten A, B und 5 C bei den herrschenden Bedingungen in der betreffenden Fraktionierungssäule zurückgehalten werden. Nach mehrmaliger Injektion und Sammeln der Probekomponenten auf den Fraktionierungssäulen können die einzelnen Komponenten durch Erhöhung der Elutionsstärke des CO₂ und/oder Zusatz eines Modifiziermittels zur Elution und über den jeweiligen Abscheider vom CO₂ getrennt 10 werden.

Alternativ kann auch die Elution mit einem flüssigen Eluenten erfolgen. In diesem Fall können die Abscheider entfallen. Die Anordnung kann auch so abgewandelt werden, daß anstelle von drei Abscheidern nur ein Abscheider hinter dem 15 Umschaltventil verwendet wird.

Durch das erfindungsgemäße Verfahren kann eine übliche SFC-Anlage energetisch viel günstiger betrieben werden. Im Wärmetauscher nach dem Vorratstank muß das CO₂ überhaupt nicht oder nur wenig erwärmt werden. Durch den geringeren Druck 20 vor der Druckregeleinheit ist auch die Abkühlung durch die adiabatische Expansion geringer und damit muß dem Wärmetauscher nach der Trennsäule viel weniger Energie zugeführt werden. Prinzipiell kann das erfindungsgemäße Verfahren auf jeder SFC- Anlage ausgeführt werden.

25 Das erfindungsgemäße Verfahren ist ganz besonders zur säulen-chromatographischen Trennung von ungesättigten, insbesondere mehrfach ungesättigten höheren Fettsäuren oder deren Derivaten, wie Estern oder Lipiden, vorzugsweise aus Naturölen, wie Pflanzenöl, Algenöl, Öl von Mikroorganismen oder Pilzen, sowie Fischöl und somit zur Gewinnung und Reinigung von SDA 30 (Stearidonsäure, 18:4, n3), AA (Arachidonsäure, 20:4, n-6), ETA (Eicosatetraensäure, 20:4, n-3), EPA 25 (Eicosapentaensäure, 20:5, n-3), DPA (Docosapentaensäure, 22:5, n-3), DHA (Docosahexaensäure, 22:6, n-3), GLA (gamma-Linolensäure

18:3, n-6), ALA (alpha-Linolensäure 18:3, n-3), DPA (Docosapentaensäure, 22:5, n-6) geeignet.

Die nachfolgenden Beispiele dienen zur Erläuterung der Erfindung, ohne die 5 Erfindung auf diese Beispiele zu begrenzen.

Beispiel 1:

Es wurde eine übliche SFC-Anordnung verwendet, wie sie weiter oben beschrieben 10 wurde. Die verwendeten Säulen wiesen eine Länge von bis zu 170 cm auf. Die normal verwendeten Arbeitsdrücke betrugen in der Regel zwischen 120 und 350 bar. Diese Säulen können in der SFC eingesetzt werden, da die Druckabfälle auch über einer so langen Säule nur gering sind (normalerweise 20-50 bar). Durch die 15 geringen Druckabfälle können auch höhere Flüsse, die in der SFC, im Gegensatz zur HPLC, nur zu einen geringen Effizienzverlust führen, eingesetzt werden. Als Eluent wurde Kohlendioxid verwendet. Die Arbeitsparameter sind in der nachfolgenden Tabelle 1 aufgelistet. Neben erfindungsgemäßem Einsatz von flüssigem bzw. fluidem Kohlendioxid wurde auch überkritisches Kohlendioxid eingesetzt.

Tabelle 1: Arbeitsparameter

Berechnung p	Säule: 10I	L (cm)	d(cm)	R(cm)	dp(µm)			Typ
		110	9	4,5	25			
	ρ (g/ml)	η dyn.(Pa s)	η dyn.(cPoise)	F (kg/h)	F (ml/min)		Δp (bar)	
80 bar, 50°C	0,219	2,05E-05	0,02053	300	22.831,05		21,6	SFC
100 bar, 50°C	0,3899	2,95E-05	0,02945	300	12.823,80		17,4	SFC
200 bar, 50°C	0,784	6,80E-05	0,06797	300	6.377,55		20,0	SFC
25°C, 150 bar	0,8771	8,63E-05	0,0863	300	5.700,60		22,7	SbFC
0°C, 150 bar	1	1,23E-04	0,1234	300	5.000,00		28,4	SbFC
0°C, 300 bar	1,055	1,47E-04	0,1466	300	4.739,34		32,0	SbFC
0°C, 40 bar	0,9333	1,01E-04	0,1009	300	5.357,33		24,9	LFC
10°C, 50 bar	0,8705	8,00E-05	0,08	300	5.743,83		21,2	LFC
25°C, 70 bar	0,744	6,04E-05	0,06043	300	6.720,43		18,7	LFC
MeOH, 20°C	0,79	5,84E-04	0,584	300	6.329,11		170,4	HPLC
EtOH, 20°C	0,789	1,20E-03	1,201	300	6.337,14		350,9	HPLC

5 Berechnung gemäß:
$$\Delta p = \frac{F \cdot \eta \cdot L \cdot 1000}{60 \cdot \pi \cdot r^2 \cdot dp^2}$$

mit

- Δp Druckabfall in [bar]
- F Volumenfluß des Eluenten in [ml/min]
- L Länge der Säule in [cm]
- η Viskosität in [cPoise]; 1000
CPoise=1Pa s
- R Innenradius der Säule in [cm]
- Dp Teilchendurchmesser in [µm]

Beispiel 2:

Es wurden Trennungen eines Fischölethylesters auf zwei verschiedenen stationären

5 Phasen durchgeführt. Gewählt wurde jeweils sowohl überkritische Bedingungen als auch eine Temperatur/Fluß-Kombination aus dem erfindungsgemäßen Bereich. In der folgenden Tabelle 2 sind die Reinheit der EPA und/oder DHA der aufgefangenen Fraktionen miteinander verglichen.

10 Es wurde ein Fischöl unter verschiedenen Bedingungen getrennt: flüssige Phase ($T=18^\circ\text{C}$, $p_n=52$ bar; $F=300$ kg/h); überkritische Phase: ($T=46^\circ\text{C}$, $p_n=105$ bar; $F=300$ kg/h); stationäre Phase: Aminopropyl; mobile Phase: CO_2 .)

In Tabelle 2 ist der Gehalt an EPA in % der jeweiligen Fraktion aufgetragen. Wie

15 leicht zu erkennen, ist der Verlauf sehr ähnlich. Jedoch erfolgte die Trennung im flüssigen erfindungsgemäßen Bereich viel schneller.

Eine Reduzierung von ca. 75 auf nur 40 min war möglich. Die absolut erzielbare

Reinheit war lediglich etwas geringer (anstatt 95% bei überkritischen Trennbe-
20 dingungen auf ca. 90% im flüssigen Bereich). Legt man jedoch zur Ausbeute-
berechnung die Fraktionen mit einer EPA-Reinheit über 80% zugrunde so entsprach
diese im überkritischen Bereich 52,7% der injizierten Masse und im flüssigen
Bereich 52,0%. Diese Zahlen verdeutlichen, daß die erzielten Trennungen sehr
ähnlich sind.

25

Jedoch sind die im flüssigen Bereich notwendigen Anlagen wesentlich billiger, da sie nur für Drücke bis ca. 70 bar geeignet sein müssen und nicht bis zu 300 bar ausgelegt werden.

Tabelle 2: Gehalt an EPA in %
bei Trennung mit
flüssigem Kohlendioxid

Gehalt an EPA in %
bei Trennung mit
überkritischem Kohlendioxid

	Trenndauer	Gehalt der Fraktion		Trenndauer	Gehalt der Fraktion
	(min)	an EPA (%)		(min)	an EPA (%)
10	12	1,4	15	21	2,03
	12,5	0,18		23	0,99
	13	0,12		25	0,29
	13,5	0,25		28	0,54
	14	0,19		30	3,01
	14,5	0,23		32	13
	15	0,53		33	14,23
	15,5	3,61		34	14,35
	16	13,94		35	18,63
	16,5	27,28		36	25,5
15	17	44,65	20	37	36,16
	17,5	64,79		38	54,23
	18	73,59		39	76,62
	18,5	79,96		40	91,08
	19	84,14		41	93,96
	19,5	86,69		42	94,78
	20,5	89,07		43	95,18
	21	89,64		44	95,44
	21,5	89,45		45	95,31
	22	88,05		46	95,25
20	22,5	87,01	25	47	94,34
	23	85,76		48	93,67
	23,5	84,1		49	93,03
	24	82,16		50	92,34
	24,5	80,53		51	91,7
	25	78,8		52	91,24
	25,5	76,97		53	90,67
	26	75,63		54	89,42
	26,5	74,09		56	86,79
	27	73,21		59	79,34
30	28,5	69,27	35	62	61,96
	32	59,55		67	14,71
	34	51,7		121	1,95
	37	26,52			
	40	17,67			

In Tabelle 3 sind für die gleichen Trennungen die Reinheiten der Fraktionen an sowohl EPA als auch DHA aufgetragen. Auch hier ist ersichtlich, daß die Trennungen vergleichbar sind, jedoch die Trennung im flüssigen Bereich ist mit 5 dieser Phase in der halben Zeit durchführbar.

Es wurde ein Fischöl unter verschiedenen Bedingungen getrennt: flüssige Phase (T=18°C, pn=52 bar; F=300 kg/h); überkritische Phase: (T=46°C, pn=105 bar; F=300 kg/h); Phase: Aminopropyl; mobile Phase: CO₂

10

Tabelle 3: Gehalt an EPA/DPA in % Gehalt an EPA/DPA in %
bei Trennung mit bei Trennung mit
flüssigem Kohlendioxid überkritischem Kohlendioxid

15	Trenndauer (min)	Gehalt der Fraktion an EPA/DPA (%)	Trenndauer (min)	Gehalt der Fraktion an EPA/DPA (%)
				an EPA/DPA (%)
20	12	1,4/2,99	21	2,03/85,53
	12,5	0,18/0,31	23	0,99/9,92
	14	0,12/0,18	25	0,29/0,65
	13,5	0,25/0,32	28	0,54/0,27
	14	0,19/0,26	30	3,01/0,37
	14,5	0,23/0,27	32	13/0,28
	15	0,53/0,12	33	14,23/0,2
	15,5	3,61/0,16	34	14,35/0,01
	16	13,94/0,01	35	18,63/0,01
	16,5	27,28/0,11	36	25,5/0,15
25	17	44,65/0,01	37	36,16/0,01
	17,5	64,79/0,01	38	54,23/0,01
	18	73,59/0,01	39	76,62/0,22
	18,5	79,96/0,01	40	91,08/0,01
	19	84,14/0,01	41	93,96/0,01
	19,5	86,69/0,01	42	94,78/0,01
30	20,5	89,07/0,32	43	95,18/0,13
	21	89,64/0,75	44	95,44/0,01
	21,5	89,45/1,41	45	95,31/0,27
	22	88,05/2,58	46	95,25/0,35
	22,5	87,01/3,72	47	94,34/0,44
35	23	85,76/5,15	48	93,67/0,58
	23,5	84,1/6,66	49	93,03/0,72
	24	82,16/8,14	50	92,34/0,93

	24,5	80,53/10	51	91,7/1,2
	25	78,8/11,66	52	91,24/1,48
	25,5	76,97/13,17	53	90,67/1,88
	26	75,63/14,81	54	89,42/2,43
5	26,5	74,09/16,12	56	86,79/3,65
	27	73,21/17,31	59	79,34/8,53
	28,5	69,27/21,06	62	61,96/21,54
	32	59,55/28,9	67	14,71/62,52
	34	51,7/35,27	121	1,95/81,27
10	37	26,52/54,38		
	40	17,67/62,17		

In Tabellen 4 und 5 ist eine Trennung des gleichen Ausgangsmaterials auf einer anderen stationären Phase gezeigt. Auch hier ist ersichtlich, daß die Trennungen unter verschiedenen Bedingungen sehr ähnlich sind. Auf dieser stationären Phase eluieren die Substanzen jedoch später bei flüssigen Bedingungen. Die maximal erreichbare EPA-Reinheit ist auf dieser stationären Phase ca. 80%. Definiert man als Vergleich für die Massenausbeute eine EPA-Reinheit von mehr als 70% so ist die Ausbeute mit 36,2% bei flüssigen Bedingungen wesentlich höher als bei überkritischen Bedingungen mit nur 30,3%. Das stark ausgeprägte Tailing sowohl der EPA als auch der DHA ist vermutlich auf noch hochaktive Silanolgruppen zurückzuführen. Diese Phase ist für die Trennung weniger geeignet. Es konnte jedoch gezeigt werden, daß die Trennungen in verschiedenen Zustandsbereichen vergleichbar sind.

25

Es wurde ein Fischöl unter verschiedenen Bedingungen getrennt: flüssige Phase ($T=18^\circ\text{C}$, $p_n=52$ bar; $F=300$ kg/h); überkritische Phase: ($T=46^\circ\text{C}$, $p_n=160$ bar; $F=300$ kg/h); stationäre Phase: Kieselgel; mobile Phase: CO_2 .

Tabelle 4: Gehalt an EPA in %
bei Trennung mit
flüssigem Kohlendioxid

Gehalt an EPA in %
bei Trennung mit
überkritischem Kohlendioxid

	Trenndauer (min)	Gehalt der Fraktion an EPA (%)	Trenndauer (min)	Gehalt der Fraktion an EPA (%)
10	20	13,02	12	9,11
	21	20,05	13	4,15
	23	34,82	14	10,06
	24	47,25	15	21,46
	25	62,5	15,5	29,13
	26	71,44	16	40,14
	26,5	74,5	16,5	54,65
	27	76,22	17	63,67
	27,5	77,39	17,5	68,77
	28	78,59	18	73,71
15	29	79,85	19	78,4
	30	80,05	19,5	80,8
	31	79,39	20	81,48
	32	76,37	21	80,31
	33	74	22	76,77
	34	70,8	23	72,49
	35	68,48	24	69,63
	36	66,17	25	66,77
	37	64,6	26	64,32
	38	64	27	66,69
20	39	62,62	28	60,73
	40	61,82	29	59,48
	41	60,99	30	58,03
	42	60,62	32	54,65
	44	59,23	34	51,4
	46	57,65	36	46,5
	48	56,66	38	42,34
	50	55,32	40	37,86
	52	53,51	45	27,81
	55	48,97		
30	60	44,15		

5
Tabelle 5: Gehalt an EPA/DHA in % bei Trennung mit flüssigem Kohlendioxid

	Trenndauer (min)	Gehalt der Fraktion an EPA/DHA (%)	Gehalt an EPA/DHA in % bei Trennung mit überkritischem Kohlendioxid
10	20	13,02/1,69	12 9,11/26,52
	21	20,05/0,92	13 4,15/3,59
	23	34,82/0,48	14 10,06/1,12
	24	47,25/0,65	15 21,46/0,45
	25	62,5/0,92	15,5 29,13/0,41
	26	71,44/1,38	16 40,14/0,39
15	26,5	74,5/1,63	16,5 54,65/0,52
	27	76,22/1,93	17 63,67/0,73
	27,5	77,39/2,19	17,5 68,77/0,97
	28	78,59/2,54	18 73,71/1,43
	29	79,85/3,42	19 78,4/2,23
	30	80,05/4,59	19,5 80,8/2,68
20	31	79,39/6,21	20 81,48/3,21
	32	76,37/8,36	21 80,31/5,23
	33	74/11,88	22 76,77/8,96
	34	70,8/15,08	23 72,49/13,52
	35	68,48/17,73	24 69,63/16,38
	36	66,17/19,53	25 66,77/19,32
25	37	64,6/21,21	26 64,32/22,11
	38	64/22,2	27 66,69/20,21
	39	62,62/23,39	28 60,73/25,81
	40	61,82/24,35	29 59,48/ 27,33
	41	60,99/24,8	30 58,03/28,62
	42	60,62/25,12	32 54,65/31,5
30	44	59,23/26,89	34 51,4/34,19
	46	57,65/28,31	36 46,5/38,47
	48	56,66/29,39	38 42,34/42,23
	50	55,32/30,58	40 37,86/45,76
	52	53,51/31,95	45 27,81/53,76
	55	48,97/34,7	
35	60	44,15/38,6	

Im Text verwendete Abkürzungen:

HPLC Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
SFC Chromatographie mit überkritischem Gas
SbFC Chromatographie mit fluidem Gas ($T < T_{kr}$; $p > p_{kr}$)
LFC Chromatographie mit flüssigem Gas ($T < T_{kr}$; $p < p_{kr}$)
EPA Eicosapentaensäurethylester (20:5)
DHA Docosahexaensäure (22:6)

Patentansprüche

1. Verfahren zur säulenchromatographischen Trennung von Stoffgemischen, wobei als Eluent ein Fluid oder eine Mischung von Fluiden in flüssigem, nicht-subkritischem und nicht-kritischem Zustand zum Einsatz kommt, die bei 25°C und 1 bar gasförmig sind.
5
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus flüssigem Distickstoffoxid, flüssigem Fluorkohlenwasserstoff oder Fluorchlorkohlenwasserstoff, flüssigem Kohlendioxid, flüssigem Schwefelhexafluorid, flüssigem Propen, flüssigem Propan, flüssigem Ammoniak, flüssigem Schwefeldioxid, flüssigem Xenon, flüssigem Ethan oder einer Mischung davon.
10
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent eine dynamische Viskosität von $10^{-4} - 10^{-5}$ Pa s, vorzugsweise $2 \cdot 10^{-4} - 2 \cdot 10^{-5}$ Pa s, eine Dichte von 0,5 – 1,2 g/ml, vorzugsweise von 0,5-1,2 g/ml aufweist
15
4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent flüssiges Kohlendioxid ist, vorzugsweise in einem Temperaturbereich von 0 bis 20°C.
20
5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent flüssiges Kohlendioxid ist in einem Druckbereich von 30 bis 150 bar .
25
6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent mindestens ein Modifiziermittel enthält.
30
7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß eine Säulenlänge von mindestens 10 cm verwendet wird.
8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß eine Säulenlänge von 0,25 bis 2,0 m verwendet wird.

9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß eine Säulenlänge von 1,1 bis 1,7 m verwendet wird.

5

10. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als stationäre Phase modifizierte oder unmodifizierte Phasen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Kieselgel, Aluminiumoxid, Titandioxid sowie geträgerte polymere stationäre Phasen verwendet werden.

10

11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die stationäre modifizierte Phase ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus auf Kieselgel, Aluminiumoxid oder Titandioxid aufgebrachte Diolphase, Aminopropylphase, RP8 und RP18 Phase.

15

12. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Stoffgemische Naturöle enthaltend ungesättigte Fettsäuren verwendet werden.

20

13. Verwendung von Fluiden oder einer Mischung von Fluiden in flüssigem, nicht-subkritischem und nicht-kritischem Zustand, die bei 25°C und 1 bar gasförmig sind, zur Isolierung und / oder Reinigung und/oder präparativen Gewinnung von Stoffgemischen mittels Säulenchromatographie.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 00/06853

A. KLASSEFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 B01D15/08

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 B01D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 127 926 A (HEWLETT-PACKARD COMP.) 12. Dezember 1984 (1984-12-12) Seite 6, Zeile 15 – Zeile 32; Ansprüche 1,2 ----	1-5, 10, 11, 13
A	US 5 422 007 A (R. NICOUD ET AL.) 6. Juni 1995 (1995-06-06) Anspruch 1 -----	1

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :	*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmelde datum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist	*X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmelde datum veröffentlicht worden ist	*Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)	*&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht	
P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmelde datum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist	

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

29. Dezember 2000

05/01/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Bertram, H

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, zu der diese Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

EP 00/06853

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 127926	A	12-12-1984		DE 3461421 D		15-01-1987
				JP 60006861 A		14-01-1985
US 5422007	A	06-06-1995		FR 2690630 A		05-11-1993
				FR 2694208 A		04-02-1994
				FR 2704158 A		28-10-1994
				CA 2111084 A		11-11-1993
				DE 69323382 D		18-03-1999
				DE 69323382 T		10-06-1999
				DK 592646 T		20-09-1999
				EP 0592646 A		20-04-1994
				ES 2130262 T		01-07-1999
				WO 9322022 A		11-11-1993
				JP 7500771 T		26-01-1995
				NO 934830 A		25-02-1994

"Express Mail" mailing label
number ET284671961

Date of Deposit

- JANUARY 18, 2002 -

I hereby certify that this paper or fee is
being mailed to the United States Postal
Service and will be sent to the
Address: U.S. Patent and Trademark Office to
the above address to Box
Date: 18 JAN 2002
Attn: Barbara J. Miller
for Patents.

PCT,

WC — BARBARA J. MILLER —

(To be signed — Name of person mailing
paper or fee)

Barbara J. Miller
(Signature of person mailing paper or fee)

Patentansprüche

1. Verfahren zur säulenchromatographischen Trennung von Stoffgemischen, wobei als Eluent ein Fluid oder eine Mischung von Fluiden in flüssigem, nicht-subkritischem und nicht-kritischem Zustand ($T < T_{kr}$ und $p < p_{kr}$) zum Einsatz kommt, die bei 25°C und 1 bar gasförmig sind.

5

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus flüssigem Distickstoffoxid, flüssigem Fluorkohlenwasserstoff oder Fluorchlorkohlenwasserstoff, flüssigem Kohlendioxid, flüssigem Schwefelhexafluorid, flüssigem Propen, flüssigem Propan, flüssigem Ammoniak, flüssigem Schwefeldioxid, flüssigem Xenon, flüssigem Ethan oder einer Mischung davon.

10

15 3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent eine dynamische Viskosität von $10^{-4} - 10^{-5}$ Pa s, vorzugsweise $2 \cdot 10^{-4} - 2 \cdot 10^{-5}$ Pa s, eine Dichte von 0,5 – 1,2 g/ml, vorzugsweise von 0,5-1,2 g/ml aufweist

20

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent flüssiges Kohlendioxid ist, vorzugsweise in einem Temperaturbereich von 0 bis 20°C.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent flüssiges Kohlendioxid ist in einem Druckbereich von 30 bis 73,7 bar.

25

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent mindestens ein Modifiziermittel enthält.

30

7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß eine Säulenlänge von mindestens 10 cm verwendet wird.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß eine Säulenlänge von 0,25 bis 2,0 m verwendet wird.

"Express Mail" mailing label
number ET284671961

Date of Deposit
- January 18, 2002 -

I hereby certify that this paper or fee is
being deposited with the United States Postal
Service "Expedited Mail" Post Office to
Addressed to the U.S. Patent and Trademark Office
Code unit 2000, 1000, 1000 and is addressed to **Box**
PCT, Assistant Commissioner for Patents,
Washington, D.C. 20231

Barbara J. Miller
(Typed or printed name of person mailing
paper or fee)

Barbara J. Miller
(Signature of person mailing paper or fee)

Claims

1. A method for the column-chromatographic separation of mixtures of materials using a fluid or a mixture of fluids which are gaseous at 25°C and 1 bar in a liquid, nonsubcritical and noncritical state ($T < T_{cr}$ and $p < p_{cr}$) as eluant.
5
2. The method as claimed in claim 1, characterized in that the eluant is selected from the group consisting of liquid dinitrogen oxide, liquid fluorinated hydrocarbons and chlorofluorocarbons, liquid carbon dioxide, liquid sulfur hexafluoride, liquid propene, liquid propane, liquid ammonia, liquid sulfur dioxide, liquid xenon, liquid ethane and mixtures thereof.
10
3. The method as claimed in claim 1, characterized in that the eluant has a dynamic viscosity of 10^{-4} - 10^{-5} Pa s, preferably $2 \cdot 10^{-4}$ - $2 \cdot 10^{-5}$ Pa s, a density of 0.5 - 1.2 g/ml, preferably 0.5 - 1.2 g/ml.
15
4. The method as claimed in claim 1, characterized in that the eluant is liquid carbon dioxide, preferably in a temperature range from 0 to 20°C.
20
5. The method as claimed in claim 1, characterized in that the eluant is liquid carbon dioxide in a pressure range from 30 to 73.7 bar.
25
6. The method as claimed in claim 1, characterized in that the eluant comprises at least one modifier.
30
7. The method as claimed in claim 1, characterized in that a column length of at least 10 cm is used.
35
8. The method as claimed in claim 7, characterized in that a column length of from 0.25 to 2.0 m is used.
40

"Express Mail" mailing label
number ET284671961

Date of Deposit
- JANUARY 18, 2002 -

I hereby certify that this paper or fee is
being deposited with the United States Postal
Service "Express Mail" Post Office to
Assistants to the Director 37CFR 1.10 on the
date on which it is deposited and is addressed to Box
PCT, Assistant Commissioner for Patents,
Washington, D.C. 20231

Barbara J. Miller
(Typed or printed name of person mailing
paper or fee)

Barbara Miller
(Signature of person mailing paper or fee)

15

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM
GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

REC'D 01 NOV 2001

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Annehmers oder Anwalts 199kd02.wo	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/06853	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 18/07/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 21/07/1999	
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK B01D15/08			
Annehmer KD PHARMA BEXBACH GMBH et al.			

<p>1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Annehmer gemäß Artikel 36 übermittelt.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).</p> <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt 1 Blätter.</p>	
<p>3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <ul style="list-style-type: none"> I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts II <input type="checkbox"/> Priorität III <input type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit IV <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung V <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung VI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen VII <input checked="" type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung VIII <input checked="" type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung 	

Datum der Einreichung des Antrags 10/02/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 30.10.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Sembrzki, T Tel. Nr. +49 89 2399 8626





I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17): Beschreibung, Seiten:*)

1-20 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

9-13 ursprüngliche Fassung

1-8 eingegangen am 16/10/2001 mit Schreiben vom 16/10/2001

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

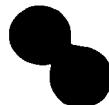
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- Beschreibung, Seiten:
- Ansprüche, Nr.:



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/06853

Zeichnungen, Blatt:

5. Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 1-13
	Nein: Ansprüche
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche 1-13
	Nein: Ansprüche
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche 1-13
	Nein: Ansprüche

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:
siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt



Es wird auf folgendes Dokument verwiesen:

D1: EP-A-0 127 926 (HEWLETT-PACKARD COMP.)
12. Dezember 1984 (1984- 12-12)

Punkt V:

1. Neuheit und erforderische Tätigkeit

1.1 D1 welches als nächstliegender Stand der Technik angesehen wird, offenbart ein Chromatographieverfahren, bei dem verflüssigte Gase als Eluenten verwendet werden. Die Gase werden unterhalb der kritischen Temperatur belassen, werden jedoch durch Kompression verflüssigt wobei überkritische Drücke zum Einsatz kommen (siehe D1, Tabellen).

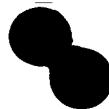
Der Gegenstand von Anspruch 1 der vorliegenden Anmeldung unterscheidet sich von D1 darin, daß sowohl Druck als auch Temperatur unterhalb der kritischen Werte gehalten werden. Das Funktionieren der Chromatographie bei den genannten Verfahrensparametern war aus dem vorliegenden Stand der Technik nicht absehbar. Durch die Vermeidung von kritischen Größen kann auf energieaufwendiges Erhitzen und Abkühlen verzichtet werden, zusätzlich ergeben sich geringere Anforderungen an den apparativen Aufwand.

Ein derartiges Verfahren ist aus dem vorliegenden Stand der Technik weder bekannt, noch wird es durch ihn nahegelegt. Die Gegenstände des Anspruchs 1 und des korrespondierenden Verwendungsanspruches 13 entsprechen somit den Erfordernissen der Artikel 33(2) und (3) PCT.

1.2 Die Ansprüche 2-12 sind vom Anspruch 1 abhängig und erfüllen damit ebenfalls die Erfordernisse des PCT in bezug auf Neuheit und erforderische Tätigkeit.

2. Industrielle Anwendung

Die industrielle Anwendbarkeit ist offensichtlich.



Punkt VII:

Um die Erfordernisse der Regel 5.1(a)(ii) PCT zu erfüllen, ist in der Beschreibung das für den Gegenstand der Anmeldung relevante Dokument D1 zu nennen; der darin enthaltene einschlägige Stand der Technik sollte kurz umrissen werden.

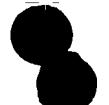
Punkt VIII:

Klarheit

1. Da lediglich die Chromatographie mit "flüssigem" Gas (LFC) gemeint ist, sollten sowohl aus Klarheitsgründen als auch zur Abgrenzung von D1 die Verfahrensbedingungen $T < T_{kr}$ und $p < p_{kr}$ auch im Verwendungsanspruch 13 spezifiziert werden (Artikel 6 sowie 33(2) PCT).
- 2.1 Wie aus der Beschreibung zu verstehen ist, wird der "fluide" Zustand als subkritisch bezeichnet, der nach Anspruch 1 eigentlich ausgegrenzt sein soll. Auf Seite 12, Zeilen 17 und 18, werden jedoch beide Zustände als erfindungsgemäß bezeichnet. Sollte dieser Bereich in den Anspruchsumfang fallen, so ist D1 als neuheitsschädlich anzusehen (siehe D1, Seite 4, Zeilen 1-15 und Seite 6, Zeilen 15-32).
- 2.2 Absatz drei auf Seite 6 ist widersprüchlich. Ab Seite 5, Zeile 5, werden Ausgestaltungen des erfindungsgemäß Verfahrens beschrieben, wobei auf Seite 6, Zeilen 7 und 8, bei Kohlendioxid vorzugsweise Drücke von 30 bis 150 bar genannt werden. Diese Drücke liegen jedoch zum Teil weit über dem kritischen Druck und fallen in den in D1 beschriebenen Bereich.
- 2.3 Zudem ist die Formulierung auf Seite 6, Zeilen 9-10 mißverständlich. Zwischen 5,2 und 73,7 bar existiert ein Bereich, in dem eine flüssige Phase mit einer Gasphase im Gleichgewicht steht. Wie aus D1, Figur 1 ersichtlich ist, besteht jedoch auch bei höheren Drücken und entsprechender Temperatur der flüssige Zustand.



2.4 Die genannten Widersprüche zwischen den Ansprüchen und der Beschreibung führt zu Zweifeln bezüglich des Gegenstandes des Schutzbegehrens, weshalb die Ansprüche nicht klar sind (Artikel 6 PCT).



Patentansprüche

1. Verfahren zur säulenchromatographischen Trennung von Stoffgemischen, wobei als Eluent ein Fluid oder eine Mischung von Fluiden in flüssigem, nicht-subkritischem und nicht-kritischem Zustand ($T < T_{kr}$ und $p < p_{kr}$) zum Einsatz kommt, die bei 25°C und 1 bar gasförmig sind.
- 5 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus flüssigem Distickstoffoxid, flüssigem Fluorkohlenwasserstoff oder Fluorchlorkohlenwasserstoff, flüssigem Kohlendioxid, flüssigem Schwefelhexafluorid, flüssigem Propen, flüssigem Propan, flüssigem Ammoniak, flüssigem Schwefeldioxid, flüssigem Xenon, flüssigem Ethan oder einer Mischung davon.
- 10 3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent eine dynamische Viskosität von $10^{-4} - 10^{-5}$ Pa s, vorzugsweise $2 \cdot 10^{-4} - 2 \cdot 10^{-5}$ Pa s, eine Dichte von 0,5 – 1,2 g/ml, vorzugsweise von 0,5-1,2 g/ml aufweist
- 15 4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent flüssiges Kohlendioxid ist, vorzugsweise in einem Temperaturbereich von 0 bis 20°C.
- 20 5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent flüssiges Kohlendioxid ist in einem Druckbereich von 30 bis 73,7 bar .
- 25 6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent mindestens ein Modifiziermittel enthält.
7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß eine Säulenlänge von mindestens 10 cm verwendet wird.
- 30 8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß eine Säulenlänge von 0,25 bis 2,0 m verwendet wird.



Translation
20/06/08

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 199kd02.wo	FOR FURTHER ACTION SeeNotificationofTransmittalofInternational Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/06853	International filing date (day/month/year) 18 July 2000 (18.07.00)	Priority date (day/month/year) 21 July 1999 (21.07.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC B01D 15/08		
Applicant KD PHARMA BEXBACH GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 1 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I Basis of the report
- II Priority
- III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV Lack of unity of invention
- V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI Certain documents cited
- VII Certain defects in the international application
- VIII Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 10 February 2001 (10.02.01)	Date of completion of this report 30 October 2001 (30.10.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

 the international application as originally filed the description:

pages 1-20, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the claims:

pages 9-13, as originally filed

pages _____, as amended (together with any statement under Article 19)

pages _____, filed with the demand

pages 1-8, filed with the letter of 16 October 2001 (16.10.2001)

 the drawings:

pages _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the sequence listing part of the description:

pages _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

 the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)). the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)). the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

 contained in the international application in written form. filed together with the international application in computer readable form. furnished subsequently to this Authority in written form. furnished subsequently to this Authority in computer readable form. The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished. The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.4. The amendments have resulted in the cancellation of: the description, pages _____ the claims, Nos. _____ the drawings, sheets/fig _____5. This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-13	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-13	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-13	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Reference is made to the following document:

D1: EP-A-0 127 926 (HEWLETT-PACKARD COMP.)
12 December 1984 (1984-12-12)

1. Novelty and inventive step

1.1 D1, which is considered the closest prior art, discloses a chromatography method in which liquefied gases are used as eluent. The gases are left below a critical temperature but are liquefied by compression, supercritical pressures being used (see D1, tables).

The subject matter of Claim 1 of the present application differs from D1 in that both the pressure and temperature are kept below the critical values. The way in which the chromatographic process functions with these process parameters could not be foreseen from the available prior art. By avoiding critical values, energy-intensive heating and cooling can be dispensed with, and demands in terms of apparatus are also reduced.

A method of this type is neither disclosed nor suggested by the available prior art. Therefore the subject matter of Claim 1 and corresponding use Claim 13 meets the requirements of PCT Article 33(2) and (3).

1.2 Claims 2-12 are dependent on Claim 1 and so likewise meet the PCT novelty and inventive step requirements.

2. Industrial applicability

The invention obviously has industrial applicability.

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

In order to meet the requirements of PCT Rule 5.1(a)(ii), the description should cite D1, which is relevant to the subject matter of the application, and it should also briefly outline the pertinent prior art contained therein.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

Clarity

1. Since only chromatography with "liquid" gas (LFC) is intended, both for reasons of clarity and for delimitation over D1, the method conditions $T < T_{kr}$ and $p < p_{kr}$ should also be specified in use Claim 13 (PCT Article 6 and PCT Article 33(2)).
- 2.1 As the description indicates, the "fluid" state is said to be subcritical and should actually be excluded from Claim 1. However, on page 12, lines 17 and 18, both states are said to be covered by the invention. If this range is intended to be covered by the scope of the claims, D1 can be considered prejudicial to novelty (see D1, page 4, lines 1-15, and page 6, lines 15-32).
- 2.2 Paragraph 3 on page 6 is contradictory. From page 5, line 5, configurations of the claimed method are described, preferable pressures of between 30 and 150 bar in the case of carbon dioxide being mentioned on page 6, lines 7 and 8. However, some of these pressures are far above the critical pressure and fall in the range described in D1.
- 2.3 Moreover, the wording on page 6, lines 9-10, is misleading. Between 5.2 and 73.7 bar there is a range in which a liquid phase is equivalent to a gaseous phase. However, as D1, Figure 1, shows, the liquid state also exists at higher pressures and corresponding temperature.

VIII. Certain observations on the international application

2.4 These inconsistencies between the claims and the description give rise to doubt as concerns the subject matter for which protection is sought and hence the claims are unclear (PCT Article 6).



PCT

Receiving Office Request Form
199kd02.us ANTRAG (4)pages

Der Unterzeichneter beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

PCT/EP 00/06853

Internationales Aktenzeichen

(18.07.2000)

18 JUL 2000

Internationales Anmeldedatum

EUROPEAN PATENT OFFICE

PCT INTERNATIONAL APPLICATION

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)
(max. 12 Zeichen) 199kd02.WO

Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG

Säulenchromatographisches Trennverfahren

Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

KD Pharma Bexbach GmbH
Am Kraftwerk 4-6
66450 Bexbach
Deutschland

Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

alle Bestimmungsstaaten

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Krumbholz, Rudolf
4, rue des Lys
57510 Holving
Frankreich

Diese Person ist:

nur Anmelder

Anmelder und Erfinder

nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

FR

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

alle Bestimmungsstaaten

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

Anwalt

gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Ackermann, Joachim
Cohausenstrasse 1
65719 Hofheim/Ts.
Deutschland

Telefonnr.:

0049-6192-295657

Telefaxnr.:

0049-6192-295658

Fernschreibnr.:

Zustellanschrift: Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigefügt werden.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Schirra, Norbert
Schumannstrasse 46
66333 Völklingen
Deutschland

Diese Person ist:

nur Anmelder
 Anmelder und Erfinder

nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat): DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: alle Bestimmungsstaaten alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika nur die Vereinigten Staaten von Amerika die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Treitz, Manfred
Ludweilerstrasse 54
66352 Großrosseln
Deutschland

Diese Person ist:

nur Anmelder
 Anmelder und Erfinder

nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat): DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: alle Bestimmungsstaaten alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika nur die Vereinigten Staaten von Amerika die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

nur Anmelder
 Anmelder und Erfinder

nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat): DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: alle Bestimmungsstaaten alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika nur die Vereinigten Staaten von Amerika die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

nur Anmelder
 Anmelder und Erfinder

nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: alle Bestimmungsstaaten alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika nur die Vereinigten Staaten von Amerika die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.



Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

Regionales Patent

AP ARIPO-Patent: **GH** Ghana, **GM** Gambia, **KE** Kenia, **LS** Lesotho, **MW** Malawi, **SD** Sudan, **SL** Sierra Leone, **SZ** Swasiland, **UG** Uganda, **ZW** Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist

EA Eurasisches Patent: **AM** Armenien, **AZ** Aserbaidschan, **BY** Belarus, **KG** Kirgisistan, **KZ** Kasachstan, **MD** Republik Moldau, **RU** Russische Föderation, **TJ** Tadschikistan, **TM** Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist

EP Europäisches Patent: **AT** Österreich, **BE** Belgien, **CH** und **LI** Schweiz und Liechtenstein, **CY** Zypern, **DE** Deutschland, **DK** Dänemark, **ES** Spanien, **FI** Finnland, **FR** Frankreich, **GB** Vereinigtes Königreich, **GR** Griechenland, **IE** Irland, **IT** Italien, **LU** Luxemburg, **MC** Monaco, **NL** Niederlande, **PT** Portugal, **SE** Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist

OA OAPI-Patent: **BF** Burkina Faso, **BJ** Benin, **CF** Zentralafrikanische Republik, **CG** Kongo, **CI** Côte d'Ivoire, **CM** Kamerun, **GA** Gabun, **GN** Guinea, **GW** Guinea-Bissau, **ML** Mali, **MR** Mauretanien, **NE** Niger, **SN** Senegal, **TD** Tschad, **TG** Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

<input checked="" type="checkbox"/> AE Vereinigte Arabische Emirate	<input checked="" type="checkbox"/> LR Liberia
<input checked="" type="checkbox"/> AL Albanien	<input checked="" type="checkbox"/> LS Lesotho
<input checked="" type="checkbox"/> AM Armenien	<input checked="" type="checkbox"/> LT Litauen
<input checked="" type="checkbox"/> AT Österreich	<input checked="" type="checkbox"/> LU Luxemburg
<input checked="" type="checkbox"/> AU Australien	<input checked="" type="checkbox"/> LV Lettland
<input checked="" type="checkbox"/> AZ Aserbaidschan	<input checked="" type="checkbox"/> MD Republik Moldau
<input checked="" type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina	<input checked="" type="checkbox"/> MG Madagaskar
<input checked="" type="checkbox"/> BB Barbados	<input checked="" type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien
<input checked="" type="checkbox"/> BG Bulgarien	<input checked="" type="checkbox"/> MN Mongolei
<input checked="" type="checkbox"/> BR Brasilien	<input checked="" type="checkbox"/> MW Malawi
<input checked="" type="checkbox"/> BY Belarus	<input checked="" type="checkbox"/> MX Mexiko
<input checked="" type="checkbox"/> CA Kanada	<input checked="" type="checkbox"/> NO Norwegen
<input checked="" type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein	<input checked="" type="checkbox"/> NZ Neuseeland
<input checked="" type="checkbox"/> CN China	<input checked="" type="checkbox"/> PL Polen
<input checked="" type="checkbox"/> CU Kuba	<input checked="" type="checkbox"/> PT Portugal
<input checked="" type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik	<input checked="" type="checkbox"/> RO Rumänien
<input checked="" type="checkbox"/> DE Deutschland	<input checked="" type="checkbox"/> RU Russische Föderation
<input checked="" type="checkbox"/> DK Dänemark	<input checked="" type="checkbox"/> SD Sudan
<input checked="" type="checkbox"/> EE Estland	<input checked="" type="checkbox"/> SE Schweden
<input checked="" type="checkbox"/> ES Spanien	<input checked="" type="checkbox"/> SG Singapur
<input checked="" type="checkbox"/> FI Finnland	<input checked="" type="checkbox"/> SI Slowenien
<input checked="" type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich	<input checked="" type="checkbox"/> SK Slowakei
<input checked="" type="checkbox"/> GD Grenada	<input checked="" type="checkbox"/> SL Sierra Leone
<input checked="" type="checkbox"/> GE Georgien	<input checked="" type="checkbox"/> TJ Tadschikistan
<input checked="" type="checkbox"/> GH Ghana	<input checked="" type="checkbox"/> TM Turkmenistan
<input checked="" type="checkbox"/> GM Gambia	<input checked="" type="checkbox"/> TR Türkei
<input checked="" type="checkbox"/> HR Kroatien	<input checked="" type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago
<input checked="" type="checkbox"/> HU Ungarn	<input checked="" type="checkbox"/> UA Ukraine
<input checked="" type="checkbox"/> ID Indonesien	<input checked="" type="checkbox"/> UG Uganda
<input checked="" type="checkbox"/> IL Israel	<input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika
<input checked="" type="checkbox"/> IN Indien	<input checked="" type="checkbox"/> UZ Usbekistan
<input checked="" type="checkbox"/> IS Island	<input checked="" type="checkbox"/> VN Vietnam
<input checked="" type="checkbox"/> JP Japan	<input checked="" type="checkbox"/> YU Jugoslawien
<input checked="" type="checkbox"/> KE Kenia	<input checked="" type="checkbox"/> ZA Südafrika
<input checked="" type="checkbox"/> KG Kirgisistan	<input checked="" type="checkbox"/> ZW Simbabwe
<input checked="" type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea	
<input checked="" type="checkbox"/> KR Republik Korea	
<input checked="" type="checkbox"/> KZ Kasachstan	
<input checked="" type="checkbox"/> LC Saint Lucia	
<input checked="" type="checkbox"/> LK Sri Lanka	

Kästchen für die Bestimmung von Staaten, die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

Costa Rica, Dominika, Marokko, Tansania,

no/EP

Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen: Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannten Bestimmungen, die von dieser Erklärung ausgenommen sind. Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

Feld Nr. VI PRIORITYANSUCH		<input type="checkbox"/> Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben.		
Anmeldeatum der früheren Anmeldung (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen der früheren Anmeldung	Ist die frühere Anmeldung eine:		
		nationale Anmeldung: Staat	regionale Anmeldung: regionales Amt	internationale Anmeldung: Anmeldeamt
Zeile (1) 21/Juli/1999 (21.07.99)	199 34 168.0	DE		
Zeile (2)				
Zeile (3)				

Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in der (den) Zeile(n) bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist(sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist)
* Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, so muß in dem Zusatzfeld mindestens ein Staat angegeben werden, der Mitgliedsstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums ist und für den die frühere Anmeldung eingereicht wurde.

Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA) (falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchenbehörden für die Ausführung der internationalen Recherche zuständig sind, geben Sie die von Ihnen gewählte Behörde an; der Zweibuchstaben-Code kann benutzt werden): ISA /	Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche; Bezugnahme auf diese frühere Recherche (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist): Datum (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen	Staat (oder regionales Amt)
---	---	--------------	-----------------------------

Feld Nr. VIII KONTROLLISTE; EINREICHUNGSSPRACHE

Diese internationale Anmeldung enthält die folgende Anzahl von Blättern:	Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:
Antrag : 4	1. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung
Beschreibung (ohne Sequenzprotokollteil) : 20	2. <input type="checkbox"/> Gesonderte unterzeichnete Vollmacht
Ansprüche : 2	3. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden):
Zusammenfassung : 1	4. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen einer Unterschrift
Zeichnungen : -	5. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e), in Feld Nr. VI durch folgende Zeilennummer gekennzeichnet:
Sequenzprotokollteil der Beschreibung : -	6. <input type="checkbox"/> Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache:
Blattzahl insgesamt : 27	7. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen oder anderem biologischen Material
	8. <input type="checkbox"/> Protokoll der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzen in computerlesbarer Form
	9. <input type="checkbox"/> Sonstige (einzel anführen):
Abbildung der Zeichnungen, die mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden soll (Nr.):	Sprache, in der die internationale Anmeldung eingezeichnet wird:

Feld Nr. IX UNTERSCHRIFFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

Der Vertreter:

Dr. Ackermann

Vom Anmeldeamt auszufüllen		
1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	18 JUL 2000	18.07.2000
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:	2. Zeichnungen <input type="checkbox"/> eingegangen: <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:	
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:		
5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind):	ISA /	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchengebühr aufgeschoben

Vom Internationalen Büro auszufüllen	
Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:	

"Express Mail" mailing label
number ET284671961

Date of Deposit
- JANUARY 18, 2002 -

I hereby certify that this paper or fee is
being deposited with the United States Postal
Service "Express Mail Post Office to
Addressee" as invited under 37 CFR 1.10 on the
date indicated above and is addressed to **Box**
PCT, **Assistant Commissioner for Patents**,
Washington, D.C. 20231

- JANUARY 18, 2002 *Barbara J. Miller*
(Typed or printed name of person mailing
paper or fee)

Barbara J. Miller
(Signature of person mailing paper or fee)

19/06/90 000 15

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 01 NOV 2001

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Annehmers oder Anwalts 199kd02.wo	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/06853	Internationales Anmelde datum (Tag/Monat/Jahr) 18/07/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 21/07/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK B01D15/08		
Annehmer KD PHARMA BEXBACH GMBH et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Annehmer gemäß Artikel 36 übermittelt.

2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 1 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

I Grundlage des Berichts
II Priorität
III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
V Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
VI Bestimmte angeführte Unterlagen
VII Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 10/02/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 30.10.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde: Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu/d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Sembritzki, T Tel. Nr. +49 89 2399 8626



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/06853

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17): Beschreibung, Seiten:*).

1-20 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

9-13 ursprüngliche Fassung

1-8 eingegangen am 16/10/2001 mit Schreiben vom 16/10/2001

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung bzw. wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- Beschreibung, Seiten:
- Ansprüche, Nr.:

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/06853

Zeichnungen, Blatt:

5. Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 1-13
	Nein: Ansprüche
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche 1-13
	Nein: Ansprüche
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche 1-13
	Nein: Ansprüche

2. Unterlagen und Erklärungen siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:
siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt

Es wird auf folgendes Dokument verwiesen:

D1: EP-A-0 127 926 (HEWLETT-PACKARD COMP.)
12. Dezember 1984 (1984- 12-12)

Punkt V:

1. Neuheit und erforderliche Tätigkeit

1.1 D1 welches als nächstliegender Stand der Technik angesehen wird, offenbart ein Chromatographieverfahren, bei dem verflüssigte Gase als Eluenten verwendet werden. Die Gase werden unterhalb der kritischen Temperatur belassen, werden jedoch durch Kompression verflüssigt wobei überkritische Drücke zum Einsatz kommen (siehe D1, Tabellen).

Der Gegenstand von Anspruch 1 der vorliegenden Anmeldung unterscheidet sich von D1 darin, daß sowohl Druck als auch Temperatur unterhalb der kritischen Werte gehalten werden. Das Funktionieren der Chromatographie bei den genannten Verfahrensparametern war aus dem vorliegenden Stand der Technik nicht absehbar. Durch die Vermeidung von kritischen Größen kann auf energieaufwendiges Erhitzen und Abkühlen verzichtet werden, zusätzlich ergeben sich geringere Anforderungen an den apparativen Aufwand.

Ein derartiges Verfahren ist aus dem vorliegenden Stand der Technik weder bekannt, noch wird es durch ihn nahegelegt. Die Gegenstände des Anspruchs 1 und des korrespondierenden Verwendungsanspruches 13 entsprechen somit den Erfordernissen der Artikel 33(2) und (3) PCT.

1.2 Die Ansprüche 2-12 sind vom Anspruch 1 abhängig und erfüllen damit ebenfalls die Erfordernisse des PCT in bezug auf Neuheit und erforderliche Tätigkeit.

2. Industrielle Anwendung

Die industrielle Anwendbarkeit ist offensichtlich.

Punkt VII:

Um die Erfordernisse der Regel 5.1(a)(ii) PCT zu erfüllen, ist in der Beschreibung das für den Gegenstand der Anmeldung relevante Dokument D1 zu nennen; der darin enthaltene einschlägige Stand der Technik sollte kurz umrissen werden.

Punkt VIII:

Klarheit

1. Da lediglich die Chromatographie mit "flüssigem" Gas (LFC) gemeint ist, sollten sowohl aus Klarheitsgründen als auch zur Abgrenzung von D1 die Verfahrensbedingungen $T < T_{kr}$ und $p < p_{kr}$ auch im Verwendungsanspruch 13 spezifiziert werden (Artikel 6 sowie 33(2) PCT).
- 2.1 Wie aus der Beschreibung zu verstehen ist, wird der "fluide" Zustand als subkritisch bezeichnet, der nach Anspruch 1 eigentlich ausgegrenzt sein soll. Auf Seite 12, Zeilen 17 und 18, werden jedoch beide Zustände als erfindungsgemäß bezeichnet. Sollte dieser Bereich in den Anspruchsumfang fallen, so ist D1 als neuheitsschädlich anzusehen (siehe D1, Seite 4, Zeilen 1-15 und Seite 6, Zeilen 15-32).
- 2.2 Absatz drei auf Seite 6 ist widersprüchlich. Ab Seite 5, Zeile 5, werden Ausgestaltungen des erfindungsgemäßen Verfahrens beschrieben, wobei auf Seite 6, Zeilen 7 und 8, bei Kohlendioxid vorzugsweise Drücke von 30 bis 150 bar genannt werden. Diese Drücke liegen jedoch zum Teil weit über dem kritischen Druck und fallen in den in D1 beschriebenen Bereich.
- 2.3 Zudem ist die Formulierung auf Seite 6, Zeilen 9-10 mißverständlich. Zwischen 5,2 und 73,7 bar existiert ein Bereich, in dem eine flüssige Phase mit einer Gasphase im Gleichgewicht steht. Wie aus D1, Figur 1 ersichtlich ist, besteht jedoch auch bei höheren Drücken und entsprechender Temperatur der flüssige Zustand.

2.4 Die genannten Widersprüche zwischen den Ansprüchen und der Beschreibung führt zu Zweifeln bezüglich des Gegenstandes des Schutzbegehrens, weshalb die Ansprüche nicht klar sind (Artikel 6 PCT).

Patentansprüche

1. Verfahren zur säulenchromatographischen Trennung von Stoffgemischen, wobei als Eluent ein Fluid oder eine Mischung von Fluiden in flüssigem, nicht-subkritischem und nicht-kritischem Zustand ($T < T_{kr}$ und $p < p_{kr}$) zum Einsatz kommt, die bei 25°C und 1 bar gasförmig sind.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus flüssigem Distickstoffoxid, flüssigem Fluorkohlenwasserstoff oder Fluorchlorkohlenwasserstoff, flüssigem Kohlendioxid, flüssigem Schwefelhexafluorid, flüssigem Propen, flüssigem Propan, flüssigem Ammoniak, flüssigem Schwefeldioxid, flüssigem Xenon, flüssigem Ethan oder einer Mischung davon.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent eine dynamische Viskosität von $10^{-4} - 10^{-5}$ Pa s, vorzugsweise $2 \cdot 10^{-4} - 2 \cdot 10^{-5}$ Pa s, eine Dichte von 0,5 – 1,2 g/ml, vorzugsweise von 0,5-1,2 g/ml aufweist
4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent flüssiges Kohlendioxid ist, vorzugsweise in einem Temperaturbereich von 0 bis 20°C.
5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent flüssiges Kohlendioxid ist in einem Druckbereich von 30 bis 73,7 bar.
6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Eluent mindestens ein Modifiziermittel enthält.
7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß eine Säulenlänge von mindestens 10 cm verwendet wird.
8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß eine Säulenlänge von 0,25 bis 2,0 m verwendet wird.

ENT COOPERATION TREA

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

Date of mailing (day/month/year) 19 June 2001 (19.06.01)	To: Commissioner US Department of Commerce United States Patent and Trademark Office, PCT 2011 South Clark Place Room CP2/5C24 Arlington, VA 22202 ETATS-UNIS D'AMERIQUE in its capacity as elected Office
International application No. PCT/EP00/06853	Applicant's or agent's file reference 199kd02.wo
International filing date (day/month/year) 18 July 2000 (18.07.00)	Priority date (day/month/year) 21 July 1999 (21.07.99)
Applicant KRUMBHOLZ, Rudolf et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

10 February 2001 (10.02.01)

in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Zakaria EL KHODARY Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	--

SENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

ACKERMANN, Joachim
 Postfach 11 13 26
 60048 Frankfurt am Main
 ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year)
 26 March 2001 (26.03.01)

Applicant's or agent's file reference
 199kd02.w0

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
 PCT/EP00/06853

International filing date (day/month/year)
 18 July 2000 (18.07.00)

1. The following indications appeared on record concerning:

the applicant the inventor the agent the common representative

Name and Address

ACKERMANN, Joachim
 Cohausenstrasse 1
 D-65719 Hofheim
 Germany

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

0049 6192 295657

Facsimile No.

0049 6192 295658

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

the person the name the address the nationality the residence

Name and Address

ACKERMANN, Joachim
 Postfach 11 13 26
 60048 Frankfurt am Main
 Germany

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

+49 (0)69 92033-801

Facsimile No.

+49 (0)69 92033-7

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

the receiving Office

the designated Offices concerned

the International Searching Authority

the elected Offices concerned

the International Preliminary Examining Authority

other:

The International Bureau of WIPO
 34, chemin des Colombettes
 1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Peggy Steunenberg

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

